

KUALITAS DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINUMAN PROBIOTIK DENGAN VARIASI
EKSTRAK BUAH NAGA MERAH (*Hylotreceus polyrhizus*)

*QUALITY AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANT FROM PROBIOTIC DRINKS WITH VARIATIONS OF RED
DRAGON FRUIT (Hylotreceus polyrhizus) EXTRACT*

Eka Pratiwi Oktaviani, LM. Ekawati Purwijantiningsih, F Sinung Pranata
Program Studi Biologi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Jln Babarsari No. 44
*email : poktaviani93@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan variasi konsentrasi ekstrak buah naga merah yaitu perlakuan A 25%, perlakuan B 50%, perlakuan C 75%, dan perlakuan D 100%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) 100% menghasilkan kualitas minuman probiotik terbaik dari segi analisis kimia, fisik, mikrobiologis serta nilai kesukaan panelis yang meliputi parameter warna, aroma, dan rasa. Hasil analisis kadar abu sebesar 0,16%, kadar protein 0,13%, kadar lemak 0,13%, pH 4,03, total asam titrasi 4,03%, total fenol 0,965 µg GAE/ml, aktivitas antioksidan 86,9%, viabilitas bakteri asam laktat $4,3 \times 10^8$ CFU/ml, angka lempeng total 1×10^8 CFU/ml, dan negatif pada uji *Salmonella*. Hasil analisis memberikan perbedaan pengaruh berbeda nyata terhadap kualitas (sifat fisik, kimia, mikrobiologi, dan organoleptik) minuman probiotik, meliputi pH, kadar protein, total fenol, dan aktivitas antioksidan serta memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap kadar abu, lemak, total asam titrasi, viabilitas bakteri asam laktat, dan angka lempeng total.

Kata kunci : Buah Naga Merah, Minuman Probiotik, Antioksidan.

PENDAHULUAN

Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidasi lipid pada makanan. Antioksidan alami banyak terkandung dalam bahan pangan sayur dan buah. Salah satu buah yang tinggi antioksidan adalah buah naga.

Buah naga merah cenderung memiliki rasa manis dan bertekstur lunak dan aromanya tidak terlalu kuat sehingga tidak semua orang menyukai buah ini, sehingga diperlukan pengolahan lebih lanjut. Salah satu pengolahannya adalah ekstrak buah naga merah. Minuman dari buah akan lebih bermanfaat jika mengandung bakteri probiotik atau biasa disebut sebagai minuman probiotik sari buah. Hal tersebut dikarenakan buah merupakan media yang bagus untuk pertumbuhan bakteri asam laktat (Mousavi dkk., 2011). Akan tetapi minuman fermentasi sering kali memiliki rasa yang kurang dapat diterima oleh masyarakat, oleh karena itu dalam proses fermentasi dipilih bakteri asam laktat jenis *Lactobacillus plantarum* yang mampu menghasilkan EPS (Eksopolisakarida) (Zubaidah dkk., 2008). Penambahan bakteri *Lactobacillus plantarum* penghasil EPS pada ekstrak buah naga merah diharapkan dapat memberikan rasa

yang lebih enak dan dapat menjadi produk minuman fermentasi yang memberikan efek kesehatan yang bersifat multifungsional yaitu mengandung probiotik, eksopolisakarida, dan antioksidan

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan adalah buah naga merah, *Lactobacillus plantarum*, MRS Agar, MRS Broth, diamonium hidrogen fosfat ((NH₄)₂HPO₄), glukosa, H₂SO₄ pekat, NH₃ pekat, dietil eter, aquades, NaOH 0,1 N, amonium fosfat, asam borat, indikator PP, HCl 0,02 N, HCL 25%, reagen Lowry A dan B, kertas saring, etanol p.a, petroleum eter, DPPH 500 µM, etanol 70%, alkohol 96%, alkohol 70%, NaCl 0,85%, kapas, medium SSA, medium EMBA, *Nutrient Agar*, medium SCB, dan medium *lactose Broth*.

Alat-alat yang dipergunakan adalah pisau, gelas beker, gelas besar, gelas ukur, ose, oven, petridish, pipet ukur, propipet, Erlenmeyer, pengaduk, inkubator, pH meter, buret dan statif, pipet tetes, cawan porselen, eksikator, timbangan analitik, timbangan biasa, tanur, spektrofotometer UV-Vis, *vortex*, tabung reaksi, mikropipet, mikro tip, tip, kertas payung, trigalski, rak tabung reaksi, mikroskop, labu ukur 10 ml, labu ukur 50 ml, labu ukur 100 ml, thermometer, *laminar air flow*, *refrigerator*, autoklaf, *color reader*, kompor gas, *waterbath*, *sentrifuge*, *mikrowave*, sarung tangan, kain penyaring, botol gelas dan karet gelang.

Cara Kerja

1. Pembuatan ekstrak buah naga merah

Buah naga dipilih dan dikupas. Buah dihancurkan dengan tangan kemudian ditambahkan air yang sudah steril dengan perbandingan buah : air adalah 1 : 5 (pemberian air dilakukan secara bertahap selama 3 hari perendaman). Ekstrak buah naga merah dibuat dalam 4 konsentrasi yaitu 25, 50, 75, dan 100%.

2. Pembuatan starter cair

Sebanyak 10 mL MRS Broth yang telah steril diinokulasi dengan satu ose kultur kerja lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 48 jam sehingga diperoleh kultur cair. Kultur cair tersebut diinokulasikan sebanyak 1 ml ke dalam 9 ml ekstrak buah naga pada berbagai konsentrasi dan ditambahkan (NH₄)₂HPO₄ sebanyak 0,2% dan glukosa 5%. inkubasi dalam suhu 37° C selama 48 jam.

3. Pembuatan minuman probiotik ekstrak buah naga merah

Ekstrak buah naga dari tiap konsentrasi masing-masing diambil 100 ml dan ditambahkan ((NH₄)₂HPO₄) sebanyak 0,2% dan glukosa 5%. Selanjutnya dilakukan pasteurisasi dengan suhu 60°C selama 30 menit kemudian diinokulasi dengan *L. plantarum* 4% (v/v) lalu diinkubasi pada suhu 37° C.

4. Uji Kimia

a. Derajat keasaman atau pH (AOAC, 1995)

Minuman probiotik dikocok secara merata, kemudian diukur pH nya dengan pH meter.

b. Total Asam Titration (AOAC, 1995)

Sebanyak 10 ml sampel dimasukkan dalam Erlenmeyer kemudian ditambahkan dengan tiga tetes indikator PP 1% dan dititrasi dengan NaOH 0,1 N hingga berubah menjadi merah muda.

$$\text{Total asam laktat (\%)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times FP}{V_{\text{sampel}}}$$

c. Kadar abu (AOAC, 1995).

Cawan porselen dikeringkan dengan oven 105°C selama 1 jam. Cawan porselen (a gram) dan minuman probiotik (w gram) ditimbang dalam cawan porselen yang telah diketahui bobot kosongnya. Kemudian dimasukkan ke dalam tanur bersuhu 550°C selama 8 jam, lalu didinginkan dengan eksikator dan ditimbang (x gram).

$$\text{Kadar abu (\%b.b)} = \frac{x - a}{w} \times 100$$

d. Kadar protein (metoda Lowry) (Sudarmadji dkk., 1983).

Sampel minuman probiotik ditambah ammonium sulfat kristal agar mengendap, kemudian dipisahkan dengan *centrifuge* selama 10 menit. Supernatan dilarutkan dengan *buffer* asam asetat pH 5.0 hingga 10 ml. larutan protein sampel kemudian ditambahkan dengan Reagen Lowry B sebanyak 8 ml dan didiamkan selama 10 menit, kemudian ditambah Reagen Lowry A 1 ml dan didiamkan selama 20 menit. Selanjutnya tiap larutan protein diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm kemudian ditentukan kadar proteinnya berdasarkan kurva larutan standar yang dibuat.

e. Kadar lemak (Sudarmadji dkk., 1983)

Sampel sebanyak 10 gram ditambah dengan NH₃ pekat sebanyak 1,25 ml selanjutnya larutan ini dipanaskan dengan *waterbath* 70°C kurang lebih 15 menit. Larutan ditambah alkohol 95% sebanyak 10 ml dan dietil eter 25 ml. Seluruh larutan dimasukkan dalam labu ekstraksi kemudian dikocok 1 menit. Larutan ditambahkan petroleum eter 25 ml dan dikocok 1,5 menit. Larutan didiamkan sehingga akan membentuk dua lapisan. Lapisan atas diambil yang kemudian ditaruh dalam cawan porselen yang telah ditimbang untuk diuapkan di atas *waterbath*.

$$\text{Kadar lemak} = \frac{\text{berat cawan akhir} - \text{berat cawan kosong}}{\text{Berat cawan kosong}}$$

f. Pengukuran kadar total fenol (Lee dkk., 2003).

Sampel 0,4 mL dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL. Reagen Folin-Ciocalteu 0,4 mL ditambahkan dan kemudian dikocok. Setelah lima menit, 4 mL Na_2CO_3 7% dicampurkan dan akudes hingga mencapai volume 10 mL. Dilakukan inkubasi selama 90 menit pada suhu 23°C selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi menggunakan spektrofotometer pada λ 750 nm.

g. Penentuan Aktivitas Penangkap Radikal Bebas DPPH (Hartanto, 2012).

Sampel ekstrak buah naga merah diambil sebanyak 300 μl kemudian ditambahkan dengan 300 μl larutan DPPH 500 μM dan etanol p.a hingga mencapai volume 5 ml dalam tabung reaksi. Larutan tersebut dibiarkan selama kurang lebih 1 jam untuk memastikan radikal bebas telah terserap yang ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning muda. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{\text{Abs } t_0 - \text{Abs } t}{\text{Abs } t_0} \times 100$$

5. Uji Fisik Minuman Probiotik

a. Analisis warna secara kromatometer (deMan, 1997)

Sampel sebanyak 20 ml dimasukkan dalam plastik klip. Pengukuran dilakukan hingga alat memberi cahaya terhadap sampel sebanyak 3 kali pada titik yang berbeda.

$$x = \frac{a + 1,75L}{5,645L + a - 3,012b} \quad y = \frac{1,786L}{5,645L + a - 3,012b}$$

6. Analisa sifat mikrobiologi

a. *Total Plate Count* (Volk dan Wheeler 1993).

Sebanyak 1 ml minuman probiotik ekstrak buah naga merah diencerkan dalam 9 ml larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%) hingga pengenceran 10^{-8} . Sampel dari setiap hasil pengenceran sebanyak 0,1 ml. sampel diplating ke medium *plate count agar* dengan metode *spread plate*. Hasil diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1.n1) + (0,1.n2)]d}$$

b. Viabilitas kultur starter atau total BAL (Fardiaz, 1987)

Sebanyak 1 ml minuman probiotik ekstrak buah naga merah diencerkan dalam 9 ml larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%) hingga pengenceran 10^{-8} kemudian dipipet sebanyak 1 ml ke dalam cawan petri steril. Ditambahkan dengan 15-20 ml MRSA cair steril. Setelah agar membeku, diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung dengan metode SPC dan dinyatakan dalam satuan CFU/ml atau log CFU/ml.

c. Uji *Salmonella*

Ekstrak buah naga merah diambil sebanyak 25 ml dimasukkan ke dalam 225 ml medium *Lactose broth* dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah diinkubasi, diambil 1 ml LB dan dimasukkan ke dalam 10 ml medium *Selenite Chyistine Broth*, diinkubasi kembali selama 24 jam dengan suhu 37°C. Sampel tersebut diinokulasikan secara *streak plate* ke medium SSA, kemudian diinkubasi kembali selama 24 – 48 jam dengan suhu 37°C. Koloni tak terduga diamati.

7. Uji organoleptik.

Uji organoleptik terhadap warna, aroma, rasa, dan penilaian secara keseluruhan dilakukan 30 orang sebagai panelis dengan uji ranking 1 sampai 5. Angka 1 menyatakan tidak suka, 2 menyatakan kurang suka, 3 menyatakan agak suka, 4 menyatakan suka dan 5 menyatakan sangat suka.

8. Analisis Data (Gasperz, 1991)

Data hasil penelitian yang diperoleh dianalisis dengan ANAVA untuk mengetahui ada tidaknya beda nyata antar perlakuan. Jika terdapat beda nyata, analisis data akan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat kepercayaan 95%. Data diproses dengan program SPSS versi 15.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Analisis Kandungan Gizi Ekstrak Buah Naga Merah

Hasil analisis kandungan gizi buah naga merah didapatkan hasil seperti Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Zat Gizi Buah Naga Merah

Komponen	Taiwan Food Industry Develop and Research Authorities yang diacu dalam Felipe (2007) (/100 g buah)	Hasil analisis
Kadar Abu	0,28 g/100 g buah	0,093 %
Kadar Protein	0,16 – 0,23 g/100 g buah	0,10 %
Kadar Lemak	0,21 – 0,61 /100 g buah	0,25 %

Berdasarkan data dari Tabel 1 diperoleh kadar abu dan kadar protein ekstrak buah naga merah lebih rendah dari penelitian *Taiwan Food Industry Develop and Research Authorities*, hasil yang lebih rendah ini dikarenakan analisis yang dilakukan berupa ekstrak buah naga merah dengan maserasi air. Maserasi dengan air yang dilakukan menyebabkan tidak semua kandungan mineral dan protein dalam bahan larut dalam air sehingga hasil yang diperoleh akan lebih sedikit dibanding hasil abu dari bahan tanpa diekstrak. Hasil analisis kandungan lemak dalam ekstrak buah naga adalah 0,25. Berdasarkan hasil tersebut maka kandungan lemak dari ekstrak buah yang dihasilkan cukup besar.

Selain zat gizi, buah naga merah juga mengandung antioksidan yang baik bagi tubuh. Kandungan antioksidan pada daging buah naga merah ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 6. Kandungan Fenol Dan Antioksidan Buah Naga.

Komponen	Amelia dan Sedarso (2013)	Wisesa, dkk. (2014)	Hasil analisis
Total Fenol	-	0,39 – 0,56 (µg GAE/ ml)	0,33 (µg GAE/ ml)
DPPH	86,87 %	-	75.4 %

Terdapat perbedaan bahwa total fenol bahan tanpa diekstrak akan lebih besar dibanding dengan bahan yang telah diekstrak, karena maserasi menggunakan air membuat tidak semua fenol dalam buah naga tersari. Fenol memiliki kelarutan terbatas dengan air, yaitu 8,3 gram/100 ml (Anonim, 2004). Dari hasil analisis kandungan antioksidan ekstrak buah naga merah adalah 75,4%. Hasil rendah dibandingkan dengan penelitian Amelia dan Sedarso (2013) dalam penelitian Uji Aktivitas Antioksidan Buah Naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan Buah Naga Putih (*Hylocereus Undatus*) dengan Metode DPPH sebesar 86,87 %. Jumlah ekstrak buah naga yang digunakan juga lebih tinggi dibanding yang digunakan oleh peneliti yaitu dengan perbandingan buah : air yaitu 1 : 5, sedangkan Amelia dan Sedarso menggunakan perbandingan buah : etanol yaitu 6 : 1. Selain itu kandungan senyawa fenol dan betasianin yang lebih mudah terpartisi ke dalam etanol daripada dalam air.

2. Analisis Kimia Minuman Probiotik Ekstrak Buah Naga Merah.

a. Analisis Kadar Abu

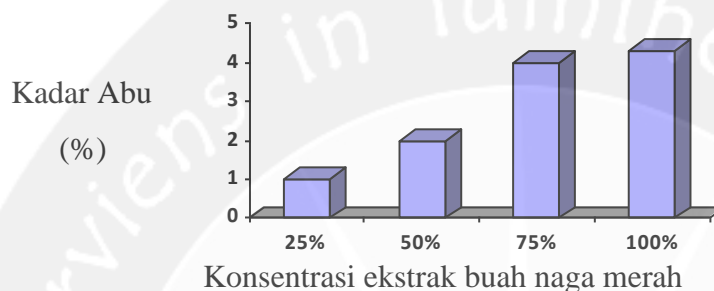
Uji statistik dari keempat perlakuan tidak menunjukkan beda nyata hanya cenderung naik. Hal tersebut dipengaruhi oleh diamonium hidrogen fosfat telah dimanfaatkan oleh bakteri *Lactobacillus plantarum* untuk mendukung metabolismenya. Selain itu, fase kalsium dan fosfat juga menentukan jumlah kadar abu. Kalsium dan fosfat akan terlarut apabila buah memiliki pH rendah, pada pH 5,2

kalsium dan fosfat akan terlarut seluruhnya (deMan, 1997). Selain itu tingkat kemurnian dari gula yang digunakan tinggi dan kadar abu rendah umumnya sebesar 0,013% akan menghasilkan produk yang jernih (Minifie, 1989). Kadar abu minuman probiotik dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 1.

Tabel 3. Kadar Abu Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah	Kadar Abu (%)
A (25%)	0,14 ^a
B (50%)	0,10 ^a
C (75%)	0,15 ^a
D (100%)	0,16 ^a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan DMRT pada tingkat kepercayaan 95%



Gambar 1. Kadar Abu Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

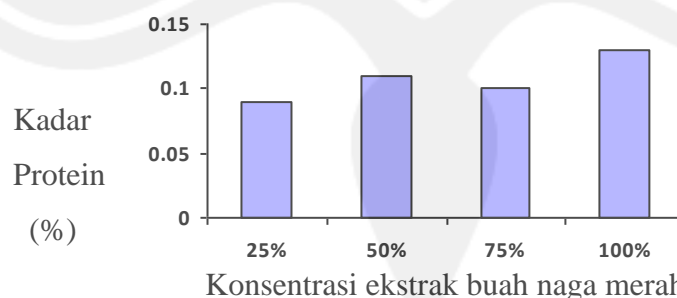
b. Analisis Kadar Protein

Kadar protein minuman probiotik dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 2.

Tabel 4. Kadar Protein Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah.

Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah	Kadar Protein (%)
A (25%)	0,09 ^a
B (50%)	0,11 ^{ab}
C (75%)	0,10 ^{ab}
D (100%)	0,13 ^{bc}

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan DMRT pada tingkat kepercayaan 95%



Gambar 2. Kadar Protein Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

Menurut Setioningsih (2014) kadar protein dipengaruhi oleh jumlah sel bakteri viabel, kenaikan jumlah sel bakteri viabel akan meningkatkan jumlah enzim yang digunakan untuk memecah protein (aktivitas proteolitik) serta meningkatkan sintesis protein, termasuk di dalamnya enzim pemecah protein (protease). Dalam hal ini protein akan dipecah menjadi peptida dan akan

dihidrolisis lebih lanjut menjadi asam-asam amino. Hasil pemecahan ini berperan sebagai prekursor dalam reaksi enzimatik dan reaksi kimia membentuk flavor.

Protein pada membran sel dari bakteri dalam proses analisis dimungkinkan juga ikut terdeteksi sehingga menyebabkan protein dalam minuman cenderung meningkat. Bakteri seperti bakteri asam laktat pada dinding dan membran dikelilingi oleh molekul – molekul besar yang merupakan protein. Selain protein pada bakteri, proses penghancuran buah naga. Pada buah naga memiliki biji yang sangat banyak sehingga ketika penghancuran buah biji ini akan ikut hancur dan protein dalam biji akan terlarut dalam ekstrak. Juga penambahan diammoniumhidrogen phospat (DAHP) yang memiliki unsur N ini dapat ikut terukur dengan metode Lowry.

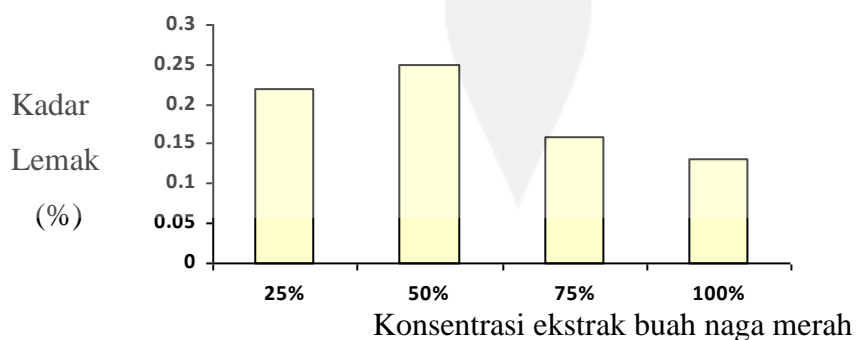
c. Analisis Kadar Lemak

Hasil statistik variasi konsentrasi dari ekstrak buah naga merah tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap kadar lemak dari minuman probiotik yang dihasilkan. Seperti diungkapkan oleh Setioningsih dkk. (2004) bahwa setelah fermentasi kadar lemak mengalami penurunan, karena *Lactobacillus* mampu menurunkan kadar lemak dengan diabsorpsi sebagai sumber energi untuk pertumbuhan. Di samping itu *L. plantarum* mempunyai aktivitas lipolitik yang mampu mensintesis lemak. Kadar lemak minuman probiotik dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 3.

Tabel 5. Kadar Lemak Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah.

Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah	Kadar Lemak (%)
A (25%)	0,22 ^a
B (50%)	0,25 ^a
C (75%)	0,16 ^a
D (100%)	0,13 ^a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan DMRT pada tingkat kepercayaan 95%



Gambar 3. Kadar Lemak Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

d. Analisis Kadar Asam Laktat

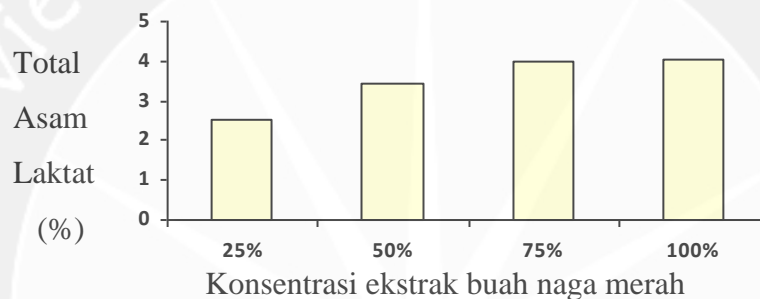
Asam laktat yang dihasilkan dari metabolisme karbohidrat. Fruktosa digunakan untuk memproduksi

asam laktat melalui jalur glikolisis. Karbohidrat lainnya juga ditambahkan dalam pembuatan minuman probiotik ini yaitu glukosa yang juga akan digunakan untuk memproduksi asam laktat. Bakteri asam laktat yang tergolong bakteri homofermentatif akan mengubah lebih dari 85% glukosa atau heksosa lainnya menjadi asam laktat (Rahman dkk.,1988). Nilai total asam laktat minuman probiotik buah naga merah dapat dilihat pada Tabel 6 dan Gambar 4.

Tabel 6. Total Asam Laktat Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah	Total Asam Titiasi (%)
A (25%)	2,52 ^a
B (50%)	3,42 ^a
C (75%)	3,99 ^a
D (100%)	4,03 ^a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan DMRT pada tingkat kepercayaan 95%



Gambar 4. Kadar Asam Laktat Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah.

Kadar asam laktat antarperlakuan tidak menunjukkan adanya beda nyata dan cenderung meningkat. Surono (2004) menyatakan bahwa peningkatan nilai total asam selama proses fermentasi disebabkan oleh *Lactobacillus plantarum* yang memiliki aldolase dan fosfoketolase sehingga dapat memfermentasi heksosa menjadi asam laktat secara homofermentatif, serta dapat memfermentasi pentosa dan glukonat menjadi asam laktat secara heterofermentatif. Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL akan disekresikan keluar sel dan terakumulasi di dalam substrat sehingga meningkatkan keasaman produk.

e. Analisis Derajat Keasaman (pH)

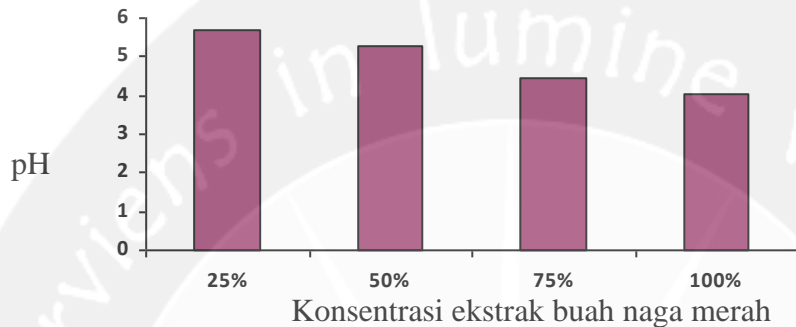
Minuman dengan konsentrasi ekstrak paling tinggi memiliki kandungan fruktosa lebih tinggi yang akan digunakan untuk memproduksi asam laktat. pH semakin rendah seiring dengan variasi jumlah ekstrak buah naga merah yang semakin tinggi. Menurut Astawan (2002) pH yang sebaiknya dicapai oleh yoghurt adalah sekitar 4,5. Berdasarkan analisis yang dilakukan, variasi konsentrasi

yang paling bagus adalah perlakuan C yang menggunakan konsentrasi ekstrak buah naga merah sebesar 75%. Analisis pH dari minuman probiotik dapat dilihat pada Tabel 7 dan Gambar 5.

Tabel 7. Derajat Keasaman (pH) Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah	pH
A (25%)	5,67 ^a
B (50%)	5,27 ^{ab}
C (75%)	4,47 ^{bc}
D (100%)	4,03 ^d

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan DMRT pada tingkat kepercayaan 95%



Gambar 5. Derajat Keasaman (pH) Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

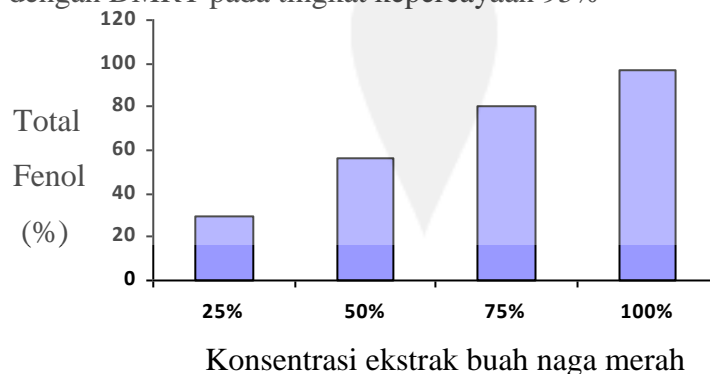
f. Analisis Kadar Fenol

Total fenol minuman probiotik dengan variasi ekstrak buah naga merah dapat dilihat pada Tabel 8 dan Gambar 6.

Tabel 8. Total Fenol Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah	Total Fenol ($\mu\text{g GAE/g}$)
A (25%)	0,297 ^a
B (50%)	0,566 ^{ab}
C (75%)	0,801 ^{ab}
D (100%)	0,965 ^c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan DMRT pada tingkat kepercayaan 95%



Gambar 6. Total Fenol Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

Semakin menurunnya total fenol seiring dengan rendahnya konsentrasi ekstrak juga

dipengaruhi oleh kandungan gula alami yang terdapat dalam ekstrak buah naga merah. Tingginya kandungan total gula memicu pertumbuhan bakteri asam laktat yang semakin banyak karena bakteri asam laktat akan semakin banyak merombak gula menjadi metabolit primer (asam laktat) dan metabolit sekunder (polifenol) (Primurdia dan kurnadi, 2014). Kadar fenol total minuman probiotik ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Wardani (2011) kadar fenol total jus buah naga terfermentasi sebesar 0,042 mg GAE/g. Hal tersebut dipengaruhi oleh jenis isolat yang digunakan berbeda. Penggunaan isolat *L. plantarum* lebih efektif dalam peningkatan total fenol dalam minuman probiotik yang dihasilkan.

g. Analisis Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan minuman probiotik dapat dilihat pada Tabel 9 dan Gambar 7.

Tabel 13. Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah	DPPH (%)
A (25%)	59,63 ^a
B (50%)	78,5 ^b
C (75%)	81,17 ^b
D (100%)	86,9 ^b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan DMRT pada tingkat kepercayaan 95%

Aktivitas antioksidan sebelum dan sesudah fermentasi menunjukkan peningkatan yaitu pada kondisi ekstrak sebelum diolah yaitu 75,4% dan setelah difermentasi 86,9% pada ekstrak tanpa pengenceran. Menurut Suhartatik dkk. (2012) bahwa komponen antioksidan yang berada bersamaan dalam satu sistem dapat bersifat sinergik dan senyawa antioksidan primer buah naga dalam kondisi asam dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.

Dari hasil penelitian diperoleh aktivitas antioksidan yang paling rendah dihasilkan oleh minuman probiotik dengan konsentrasi ekstrak sebesar 25%. Sedangkan untuk konsentrasi 50%, 75%, dan 100% tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Menurut Bisson (2001) bahwa bakteri asam laktat mempunyai kemampuan untuk menghasilkan senyawa fenol. Asam-asam organik yang dihasilkan oleh BAL selama proses fermentasi salah satunya adalah asam laktat. Menurut Kusumaningrum (2011) peningkatan aktivitas antioksidan dikarenakan terbentuknya asam laktat, selama proses fermentasi kadar asam laktat juga terus meningkat. Asam laktat pada yoghurt mengandung α -hidroxyacids (AHA) yang berfungsi sebagai antioksidan dan sering dimanfaatkan untuk pembuatan kosmetik. Kruszewska dkk. (2002) menyatakan bahwa selain dari asam laktat

adanya peningkatan aktivitas antioksidan disebabkan oleh adanya metabolit sekunder dari metabolisme bakteri. Bakteri probiotik menghasilkan senyawa antioksidan dalam bentuk vitamin C dan vitamin E.

3. Analisis Fisik Minuman Probiotik Dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

a. Analisis Intensitas Warna

Hasil uji dan kenampakan warna selai lembaran dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Warna Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah	Warna
A (25%)	Merah muda jingga
B (50%)	Jingga kemerahan
C (75%)	jingga kemerahan
D (100%)	Merah muda

Warna merah dari buah naga disebabkan karena buah tersebut memiliki kandungan antosianin yang merupakan antioksidan. Antosianin merupakan pigmen yang larut dalam air. Pada kondisi pH asam kecerahan antosianin akan meningkat karena akan berwarna merah. Fermentasi akan menyebabkan meningkatnya warna kecerahan pada minuman probiotik yang dihasilkan atau tingkat kemerahannya akan semakin tinggi (terang).

4. Analisis Mikrobiologis Minuman Probiotik Dengan Variasi Ekstrak Buah Naga Merah

a. Viabilitas bakteri asam laktat

Hasil penelitian minuman probiotik yang menggunakan *L. plantarum* sebagai bakteri pemproduksi asam laktat menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada tiap perlakuan dari minuman yang dihasilkan. Total Bakteri asam laktat dalam minuman probiotik dengan variasi ekstrak buah naga merah dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Total BAL Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah	Total BAL (CFU/ml)
A (25%)	$1,0 \times 10^{8a}$
B (50%)	$2,0 \times 10^{8a}$
C (75%)	$4,0 \times 10^{8a}$
D (100%)	$4,3 \times 10^{8a}$

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan DMRT pada tingkat kepercayaan 95%

Dari Tabel 15 viabilitas BAL pada minuman yang dihasilkan cenderung semakin tinggi walaupun pada uji statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini dapat terjadi diduga

karena selama proses fermentasi terjadi perombakan gula oleh bakteri asam laktat untuk metabolisme. Semakin rendah tingkat pengencerannya, maka nutrisi yang ada semakin besar sehingga perombakan gula yang dilakukan oleh bakteri asam laktat semakin banyak yang mengakibatkan pertumbuhannya semakin banyak pula. Jumlah tersebut dinyatakan telah memenuhi standar internasional produk probiotik dan SNI Minuman Susu Fermentasi Berperisa (SNI 7552 : 2009), untuk jumlah bakteri asam laktat yang harus terkandung dalam suatu produk pangan probiotik agar dapat memberikan efek kesehatan bagi saluran pencernaan manusia, yaitu minimal 10^7 sel/ml.

Hasil penelitian ini secara umum memiliki kemampuan viabilitas BAL yang lebih rendah bila dibandingkan dengan penelitian Zubaidah dkk. (2008) tentang Produksi Eksopolisakarida oleh *Lactobacillus plantarum* B2 pada Produk Probiotik Berbasis Sari Buah Murbei yang memiliki jumlah bakteri viabel berkisar antara $6,41 \times 10^8 - 9,36 \times 10^8$ cfu/ml. Hal ini disebabkan karena Minuman Probiotik Berbasis Sari Buah Murbei menggunakan bahan dasar sari buah murbei yang secara alami mengandung kadar gula tinggi (5,07%) dan senyawa polisakarida (750 mg/L) yang dibutuhkan untuk mendukung pertumbuhan dan aktivitas fisiologis bakteri *Lactobacillus plantarum*.

b. Perhitungan Angka Lempeng Total

Hasil penghitungan ALT minuman probiotik dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Penghitungan ALT Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah	Total BAL (CFU/ml)
A (25%)	$6,7 \times 10^{7a}$
B (50%)	10×10^{7a}
C (75%)	$6,7 \times 10^{7a}$
D (100%)	10×10^{7a}

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan DMRT pada tingkat kepercayaan 95%

Jumlah total bakteri yang tumbuh pada uji ini hanya bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* saja yang hidup tanpa ada cemaran mikrobial lainnya. Hal tersebut dengan ditandainya ciri visual dari koloni bakteri yang tampak pada medium agar yaitu berupa koloni bulat-bulat dengan ukuran seragam, tidak ada gelembung dalam koloni, dan berwarna putih. Tidak adanya cemaran mikrobial lain ini menandakan bahwa produk yang dihasilkan tidak terkontaminasi oleh mikrobial patogen atau mikrobial lainnya.

c. Uji *Salmonella*

Hasil pengujian *Salmonella* menunjukkan bahwa tidak ada koloni bakteri yang tumbuh pada medium SSA setelah inkubasi selama 48 jam (Tabel 13). Hal tersebut dikarenakan aktivitas bakteriosin oleh bakteri bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum*. Dari hasil tersebut didapat bahwa minuman probiotik yang dihasilkan dengan berbagai konsentrasi yang berbeda memiliki daya hambat yang sama terhadap *Salmonella*. Dengan demikian hal ini sesuai dengan syarat mutu mikrobiologis produk minuman susu fermentasi menurut SNI Minuman Susu Fermentasi Berperisa (SNI 7552 : 2009), yakni keberadaan bakteri *Salmonella* dalam produk harus negatif. Hasil Uji *Salmonella* Minuman Probiotik dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil Uji *Salmonella* Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah	Jumlah Koloni
A (25%)	0
B (50%)	0
C (75%)	0
D (100%)	0

5. Uji organoleptik Minuman probiotik dengan variasi ekstrak buah naga merah

Penilaian perlakuan terbaik terhadap parameter organoleptik minuman probiotik ekstrak buah naga merah dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Penilaian Perlakuan Terbaik Terhadap Parameter Organoleptik Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah

Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah	Warna	Aroma	Rasa	Rangking
A (25%)	2,5	2,6	2,63	3,67
B (50%)	3,78	2,93	3,07	2,8
C (75%)	4,23	3,87	3,8	2,13
D (100%)	4,4	3,77	4,17	1,4

Berdasarkan hasil uji organoleptik pada parameter warna perlakuan D termasuk yang disukai oleh panelis. Hal tersebut terjadi akibat penurunan pH dari minuman probiotik yang mana antosianin akan berwarna merah stabil pada pH asam dan jumlah eksopolisakarida yang dihasilkan dari minuman probiotik yang dihasilkan.

SIMPULAN

Konsentrasi ekstrak buah naga merah 100% menghasilkan minuman probiotik dengan aktivitas antioksidan tertinggi dan kualitas terbaik dari segi analisis kimia, fisik, mikrobiologis serta nilai kesukaan panelis yang

meliputi parameter warna, aroma, dan rasa serta menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2004. *Tanaman Pangan*. <http://www.bps.go.id>. 21 Mei 2013.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemist Inc., Virginia.
- Bisson, L. 2001. *The Alcoholic Fermentation Section 3*. University of California at Davis. University Extention: 91- 92
- Charley, H. 1970. *Food Science*. John Willey and Sons Inc, New York
- deMan, J. M. 1997. *Kimia Makanan*. Edisi Kedua. ITB Press, BandungGrafianita, 2011).
- Fardiaz, S. 1987. *Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan*. Lembaga Sumberdaya Informasi, Institute Pertanian Bogor, Bogor.
- Gasperz, V. 1991. *Metode Perancangan Percobaan*. Armico, Bandung.
- Kusumaningrum, A. P. 2011. Kajian total bakteri probiotik dan aktivitas antioksidan yoghurt tempe dengan variasi substrat. *Skripsi*. Prodi Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Panjuantiningrum, F. 2009. Pengaruh pemberian buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap kadar glukosa darah Tikus putih yang diinduksi aloksan. *Skripsi S-1*. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Primurdia E. G. dan Kusnadi, J. 2014. Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik Sari Kurma. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol.2 No.3 p.98-109.
- Rahman, A. 1989. *Pengantar Teknologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas
- Setioningsih , E., Setyaningsih R., Dan Susilowati A. 2004. Pembuatan Minuman Probiotik dari Susu Kedelai dengan Inokulum *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Lactobacillus Acidophilus*. *Bioteknologi 1* (1): 1-6.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1983. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit Liberty, Yogyakarta.
- Surono, I. S. 2004. *Probiotik: Susu Fermentasi dan Kesehatan*. PT. Tri Cipta Karya, Jakarta.
- Volk, W.A. dan Wheeler, M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Erlangga, Jakarta.
- Wardani, A.K. 2011. Pengaruh Fermentasi Menggunakan Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* Terhadap Kandungan Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Jus Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Skripsi S-1*. Fakultas Farmasi. Universitas Jember, Jember.
- Zubaidah E., Liasari Y., dan Saparianti E. 2008. Produksi Eksopolisakarida Oleh *Lactobacillus plantarum* B2 Pada Produk Probiotik Berbasis Buah Murbei. *Jurnal Teknologi Pertanian* Vol 9 (1) : 59 – 68.